тивности Днепро-Бугского лимана при разных вариантах его перекрытия // Самоочищение, биопродуктивность и охрана водоемов и водотоков Украины.— Киев : Наук. думка, 1975.— С. 32—35.
Иззатуллаев З. И., Старобогатов Я. И. Род Melanopsis (Gastropoda, Pectinibranchia) и его представители, обитающие в водоемах СССР // Зоол. журн.— 1984.— **63**, вып. 10.— С. 1471—1483.
Кокорева Р. А. Изменение химического состава и свойств воды нижнего Днепра в связи с процессами загрязнения и самоочищения // Круговорот вещества и энергии в водоемах. Гидрохимия и качество вод.— Лиственичное на Байкале, 1977.
Логвиненко Б. М., Старобогатов Я. И. Класс брюхоногих моллюсков Gastropoda // Атлас беспозвоночных Каспийского моря.— М. : Пищ. пром-сть, 1969.— С. 332—385.
Россова Э. Я., Мороз Т. Г., Кокорева Р. А. и др. Микробиологический режим и качество вод нижнего Днепра // Гидробиол. журн.— 1982.— № 2.— С. 31.
Dybowski W. Die Castropoden-Fauna des Kaspischen Meeres // Malak. Bl. N.F.— 1888.— **10**, S. 1—80.
Küster H. C. Die Gattungen Paludina, Hydrocaena und Valvata // Systematische Conchylien-Cabinet.— Nürnberg, 1852.— 86 S., 14 Taf.

Херсонская биологическая станция
Зоологический институт АН СССР
Получено 24.09.85

УДК 575.174.015.3:599.323.4(477)

С. В. Тесленко

ВИДЫ-ДВОЙНИКИ НАДВИДА MICROTUS ARVALIS НА УКРАИНЕ *

СООБЩЕНИЕ III. СИСТЕМА ТРАНСФЕРРИНОВ M. ARVALIS S. STR.

В первых двух сообщениях цикла были рассмотрены вопросы распространения и численности обоих видов группы *Microtus arvalis* на территории Украины. Дальнейшие исследования позволяют осветить некоторые стороны популяционной биологии обыкновенной и восточноевропейской полевок. В настоящем сообщении представлены результаты изучения некоторых особенностей генетической структуры популяции *M. arvalis* s. str.

Методы генетического исследования природных популяций, в частности электрофоретический метод — перспективное направление для изучения популяционной биологии. Одной из простых систем для исследования генетической структуры популяции являются трансферрины плазмы крови.

В качестве генетического маркера система трансферринов использовалась в ряде генетических исследований популяций американских видов рода *Microtus* (Tamarin, Krebs, 1969; 1973), а также *M. arvalis* Восточной Европы (Dobrowolska, 1981; 1981a; 1983; Dobrowolska, Zajaczkowski, 1983). В отечественной литературе известны работы, в которых описаны электрофоретические варианты трансферринов некоторых полевок и предприняты попытки популяционно-генетических исследований с использованием этой системы (Гуляева, Оленев, 1981; Гуляева, Бабушкина, 1984). Однако группа видов-двойников совершенно не изучена до сих пор в данном отношении. В наиболее полном на сегодняшний день исследовании генетической дивергенции обыкновенной и восточноевропейской полевок (Закиян и др., 1984) показана видоспецифичность электроморф ряда энзимов и неферментных белков. Однако до сих пор отсутствуют работы, посвященные популяционно-генетическим исследованиям видов группы.

Отсутствие подобных работ в отечественной литературе не позволяет оценить близость географических популяций обыкновенной полевки по биохимическим показателям, сравнить процессы, происходящие в популяциях в территориальном плане, не дает вомзожности судить об общности происходящих генетических процессов.

* Статья представлена к публикации жюри 20-й конференции молодых специалистов Института зоологии им. И. И. Шмальгаузена АН УССР (март 1986).

Данная работа в какой-то мере восполнит существующий пробел. В работе представлены результаты изучения образцов плазмы крови двух видов обыкновенных полевок, обитающих на Украине: *M. arvalis* s. str. (Pallas). 1778 и *M. rossiaemeridionalis* Ognev, 1924 (син.: *M. subarvalis* Meyer, Orlov, Scholl, 1972; *M. epiroticus* Ondrias, 1966). Описаны электроморфы трансферринов, прослежены географическая и сезонная изменчивости частот аллелей у *M. arvalis*.

Материал и методика исследований. Материалом для настоящего исследования послужили 306 особей *M. arvalis* s. str. (далее *M. arvalis*) и 103 *M. rossiaemeridionalis*. Животных отлавливали в 1984—1985 гг. в разных пунктах Украины (рис. 1). Большинство животных отловлено на полях сельскохозяйственных культур с помощью живоловушек и раскапывания нор. Образцы крови брали из подъязычного венозного сплетения с помощью пастеровской пипетки под эфирным наркозом. Для предотвращения свертывания крови пипетку смачивали раствором гепарина в изотоническом растворе глюкозы. Кровь центрифугировали при 8 тыс. оборотов в минуту в течение 10 мин. Полученный супернатант хранили в полиэтиленовых пробирках при температуре —20 °C. Электрофорез проводили в вертикальных пластинах 7 %-го полиакриламидного геля. Применялась, в основном, диск-система: pH концентрирующего геля 6,7, разделяющего — 8, 9. Зона трансферринов локализовалась в геле по методике G. Matson et al., (1966). Оценку достоверности полученных результатов проводили с помощью критериев Стьюдента и χ^2 (Лакин, 1980).

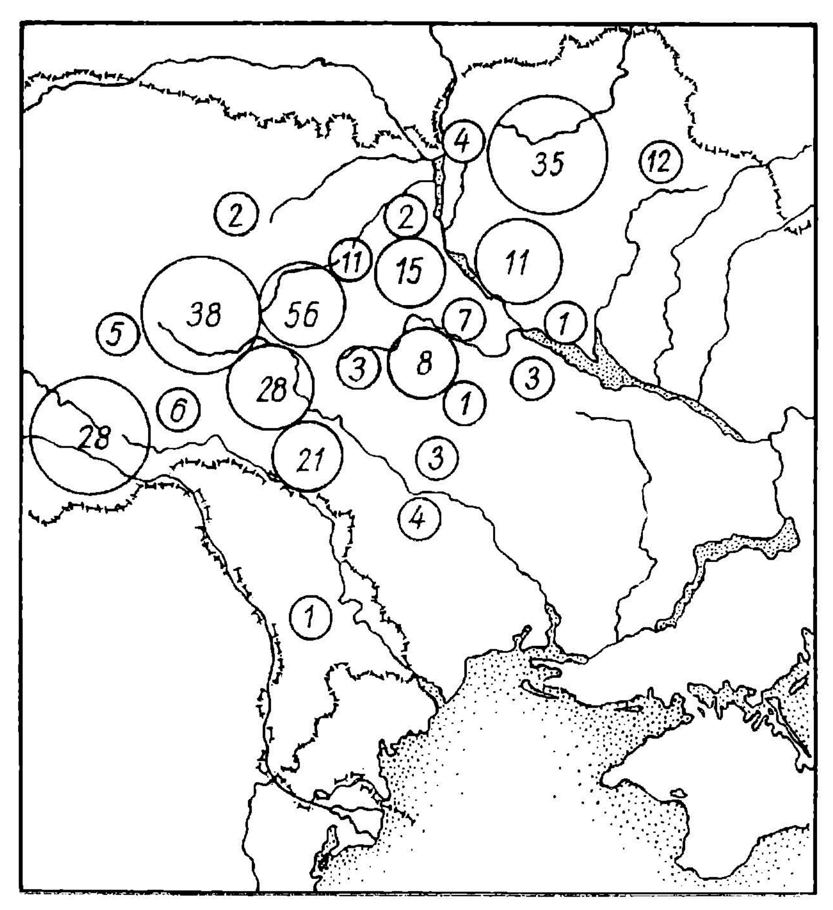


Рис. 1. Территориальная изученность трансферринов у *M. arvalis* (обведены места отлова; указано количество исследованных животных).

Полиморфизм системы Tf. Трансферрины плазмы крови *M. arvalis* оказались полиморфными. Обнаружено 2 варианта, каждый из которых локализован в геле в виде двух полос — основной, интенсивно окрашенной, и минорной, имеющей большую анодную подвижность и менее интенсивно окрашенную. У *M. rossiaemeridionalis* полиморфизм не обнаружен. У всех изученных особей зона трансферрина в геле представлена в виде двух полос (основной и минорной), идентичных по подвижности и интенсивности окраски зоне основного варианта у *M. arvalis* (рис. 2).

В настоящей работе обычный аллель трансферрина обозначен буквой Q, а редкий — S (от слов: quick — быстрый и slow — медленный). Средняя гетерозиготность популяции *M. arvalis* составила 0,049 при частотах аллелей Tf^Q 0,975 и Tf^S 0,025.

Территориальное распределение частот аллелей трансферрина. При анализе полученных данных в первую очередь была предпринята попытка обнаружить территориальные различия в частотах аллелей, что могло бы пролить свет на популяционную разобщенность *M. arvalis* в пределах Украины. Учитывая приблизительно равное количество особей, отловленных в разные сезоны, все животные были объединены в три группы по территориальному признаку. Между местами обитания каждой группы существуют преграды, могущие служить изолирующи-

ми факторами. В пределах лесостепи таковыми являются долины Днепра и Ю. Буга.

Частоты аллелей оказались близкими во всех трех группах. Недостоверно также различие между частотами аллелей трансферрина на правобережье и левобережье Днепра (рис. 3).

Сезонная изменчивость трансферринов. Для достаточно полной характеристики генетической структуры популяции и ее изучения необходимо электрофоретическое исследование многих локусов. Однако для

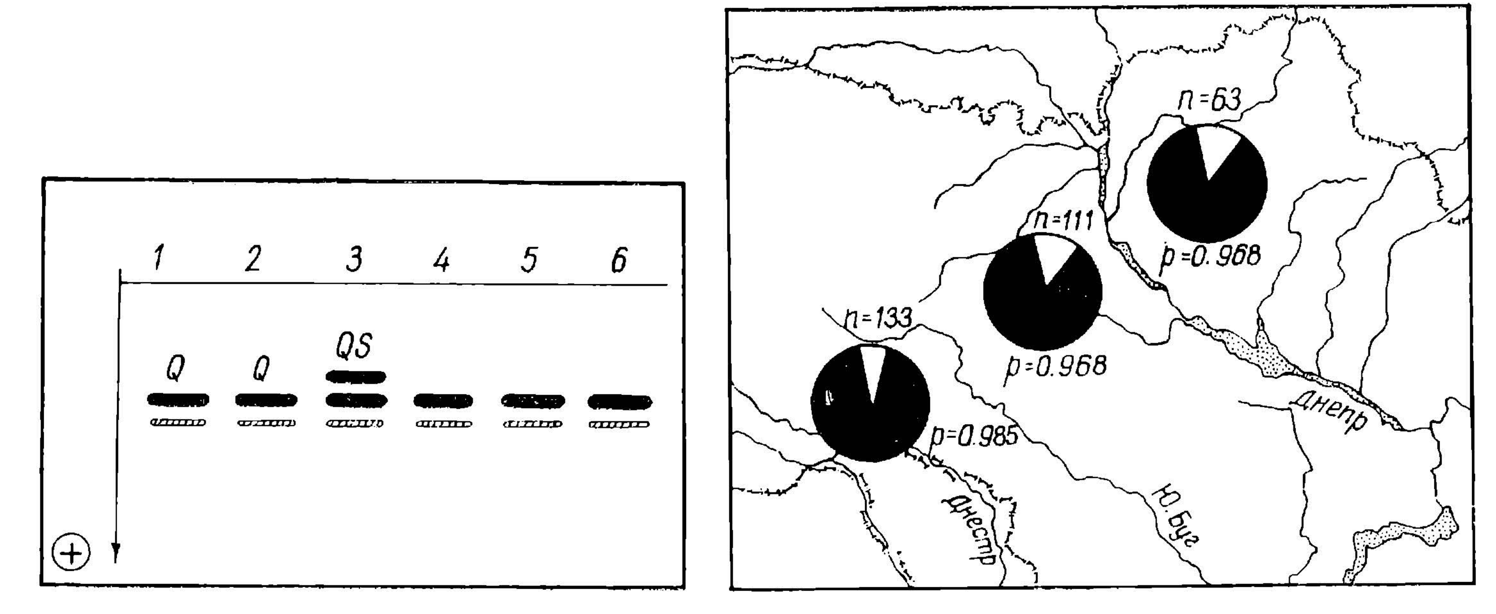


Рис. 2. Электрофоретические варианты трансферринов у *M. arvalis* (*1, 2, 3*) и *M. rossiaemeridionalis* (*4, 5, 6*) (схема).

Рис. 3. Географическое распространение Tf^{Q} аллеля у *M. arvalis* (*n* — количество животных; *p* — частота аллеля).

обнаружения общих тенденций изменения генетической структуры в связи с экологическими факторами допустимо использование в подобных исследованиях одного или нескольких локусов (Krebs, 1979; Dobrowolska, 1981).

В данной работе прослежены сезонные изменения полиморфности Tf локуса у *M. arvalis*, а также выяснена связь уровня полиморфности по данному локусу с плотностью популяции.

Ввиду малочисленности полевого материала 1985 г. и наличия общих тенденций в изменении уровня гетерозиготности в сезонных выборках 1984—1985 гг., последние были объединены.

Различия в частотах аллелей у самцов и самок в выборках всех сезонов оказались недостоверными. Сезонное распределение генотипов и частот аллелей трансферрина представлены в табл. 1.

Обсуждение результатов. Исследования генетической структуры популяций с помощью электрофоретических методов получили широкое распространение. Но в процессе изучения популяций диких животных часто возникают определенные затруднения, связанные с невозможностью подтвердить генетическую детерминацию обнаруженного белкового полиморфизма.

В последнее время появляются работы, в которых вскрывается негенетическая природа белкового полиморфизма. Так, свердловскими исследователями отмечены случаи увеличения концентрации дополнительного компонента в зоне трансферрина у беременных самок *Clethrionomys rutilus* (Гуляева, Бабушкина, 1984). M. McGovern и C. Trasy (1985) обнаружили, что у одной и той же особи *M. ochrogaster* электроморфы трансферрина и лейцинаминопептидазы могут изменяться в течение жизни. Причем такая изменчивость зарегистрирована почти у 30 % особей. M. Gaines и S. Gorman (1985) наблюдали неустойчивость

маркерных фенотипов по этим же локусам, зависящую от условий хранения полученных образцов.

Таким образом, ряд энзиматических и неферментных белков подвержен негенетической изменчивости, которая имеет видовую специфику. Следовательно, перед использованием данного локуса для изучения генетической структуры популяции необходимы предварительные лабораторные исследования над виварными животными каждого изучаемого вида.

Таблица 1. Сезонное распределение генотипов и частот аллелей трансферринов в выборке M. arvalis 1984—1985 гг.

Сезон	n	Количество особей с генотипом		Частоты аллелей		N
		Tf^{Q}/Tf^{Q}	Tf^{Q}/Tf^{S}	Tf^{Q}	Tf^{S}	
Весна	97	96	1	0,995	0,005	33
Лето	34	32	2	0,971	0,029	62
Осень	175	163	12	0,966	0,034	370

Примечание. n — количество исследованных особей; N — среднее количество особей на 1 га.

Чтобы исключить подобного рода артефакты, были проведены исследования электрофоретических вариантов трансферрина в группе особей *M. arvalis*, содержащихся в виварии. В течение двух месяцев у 24 особей (10 ♂ и 14 ♀) еженедельно брали образцы плазмы. Во время проведения опыта физиологическое состояние животных существенно менялось: 5 ♀ забеременели, 1 родила. Тем не менее электрофоретическая картина трансферринов не изменилась ни качественно, ни количественно. Гетерозиготные особи, отловленные в природной популяции, также весьма разнородны в отношении их физиологического статуса (половозрелость и беременность). Не обнаружены также изменения электрофоретической подвижности фракций трансферриновой зоны в процессе хранения образцов плазмы: идентичные фореграммы получены при разгонке одних и тех же образцов сразу же после взятия крови, спустя месяц и через 10 мес хранения.

Отсутствие негенетической изменчивости по данному локусу у *M. arvalis* подтверждает и изучение наследования трансферринов.

Впервые наследуемость трансферринов плазмы крови у трех видов рода *Microtus (M. pennsylvanicus, M. ochrogaster* и *M. breweri)* изучена Т. Маурером (Maurer, 1967). Он описал шестиаллельный монолокусный кодоминантный тип наследования трансферринов. У *M. pennsylvanicus* обнаружены все 6 аллелей, у *M. ochrogaster* и *M. breweri* — по 2 аллеля. К сожалению, автор не указывает частот, свойственных каждому аллелю, ограничиваясь указанием редких аллелей. В этой же работе предложена номенклатура для обозначения аллелей трансферрина в зависимости от электрофоретической подвижности соответствующих фракций: от Tf^{A} (наиболее подвижная) до Tf^{E} (наименее подвижная) — всего 6 аллелей по шести первым буквам английского алфавита.

Предложенная Маурером система обозначений должна способствовать стандартизации записей результатов и, следовательно, обеспечивать сравнимость полученных данных. Однако практически оказалось трудным однозначно соотнести полученные результаты с предложенной системой, так как не было возможности провести электрофорез образцов плазмы крови видов, изученных Маурером, и *M. arvalis* в одинаковых условиях. Именно поэтому в настоящей работе введена новая система обозначений, которая позволяет избежать путаницы.

Изучение наследования плазменных трансферринов у *M. arvalis* проводилось А. Добровольской (Dobrowolska, 1981). В ее работе показано, что оба аллеля наследуются в соответствии с менделевским расщеплением. Однако отмечен существенный дефицит гомозигот по редкому аллелю.

Результаты, полученные в настоящем исследовании, демонстрируют очень низкую частоту аллеля Tf^S, причем из 306 изученных особей *M. arvalis* не было обнаружено ни одной гомозиготы по редкому аллелю. Этот факт позволяет предположить существование эмбрионального отбора против гомозигот по этому аллелю. К такому же выводу приходит и А. Добровольская, проводившая скрещивание *M. arvalis* с различными генотипами.

Таблица 2. Распределение генотипов и частот аллелей в выборке M. arvalis 1984—1985 гг.

n	Генотип			Частоты аллелей		X^2
	Tf^Q/Tf^Q	Tf^Q/Tf^S	Tf^S/Tf^S	Tf^Q	Tf^S	
306	$\frac{291}{290,89}$	$\frac{15}{14,95}$	$\frac{0}{0,19}$	0,975	0,025	0,19

Примечание. n — количество исследованных особей; в числителе количество особей с данным генотипом: в знаменателе — теоретически ожидаемое по закону Харди — Вайнберга.

Сопоставление числа особей с генотипами Tf^Q/Tf^Q и Tt^Q/Tf^S по нашим данным не обнаруживает достоверного отклонения от ожидаемого числа таковых в соответствии с законом Харди-Вайнберга (табл. 2). Этот факт также косвенно подтверждает менделевское расщепление в наследовании изучаемого признака.

Территориальное распределение частот аллелей трансферрина обнаруживает недостоверность наблюдаемых различий, то есть геногеографическое сопоставление не дает оснований считать указанные преграды популяционными границами. Тем не менее следует отметить тенденцию снижения частоты аллеля Tf^S в юго-западном направлении, что в известной степени может служить свидетельством адаптивности генотипов трансферринов, хотя их роль на уровне функционирования организма остается во многом неясной.

В табл. 1 явно прослеживается снижение частоты аллеля Tf^Q (и соответственно увеличение уровня гетерозиготности) к осени. Отличия в частотах гетерозигот весенней и летней выборок оказались статистически достоверными ($P<0,05$; $t=2,12$), также как и различия между весенней и осенней выборками ($P<0,05$; $t=2,15$).

Оказалось, что частота аллеля Tf^Q связана отрицательной корреляцией с плотностью популяции N ($r=-0,69$). В настоящей работе учитывались изменения частот аллелей с изменением плотности популяции за три сезона, что не позволяет оценить достоверность этой связи. Однако такая же корреляция отмечена для самок *M. arvalis* А. Добровольской (Dobrowolska, 1981): $r=-0,68$; $P<0,05$.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о взаимосвязи плотности популяции и генетической структуры популяции, хотя трудно определить однозначно, свидетельствует ли это о влиянии плотности популяции на генетическую структуру, как это следует из гипотезы Читти (Chitty, 1970), или об обратном влиянии. Скорее всего, как считает Кребс (Krebs, 1979), существует обратная связь, управляющая балансом «плотность популяции — генетическая структура», хотя природа ее остается неясной.

Основные выводы. 1. Трансферрины плазмы крови M. arvalis полиморфны. Обнаружено 2 варианта электроморф, соответствующие двум аллелям. Вероятна кодоминантная монолокусная система наследования.

2. У *M. rossiaemeridionalis* полиморфизм по Tf локусу отсутствует.

3. Средняя гетерозиготность популяции *M. arvalis* составила 0,049 при частотах аллелей Tf^{Q} 0,975 и Tf^{S} 0,025.

4. Отсутствуют статистически достоверные территориальные различия в частотах аллелей между объединенными выборками *M. arvalis* на территории Украины.

5. Существует корреляция между степенью гетерозиготности и плотностью популяции *M. arvalis*.

В заключение автор выражает глубокую признательность сотрудникам отдела популяционной экологии наземных позвоночных Института зоологии АН УССР И. В. Загороднюку, В. С. Полищуку, В. Н. Пескову и И. А. Балле за помощь в сборе материала, а также проф. И. Т. Сокуру и проф. Н. Н. Воронцову за интерес, проявленный к данной работе.

Гуляева И. П., Бабушкина Н. Ф. Полиморфизм трансферринов у красных и красно-серых полевок // Экология лесных полевок: эколого-биохимические особенности мелких млекопитающих.— Свердловск, 1984.— С. 48—54.

Гуляева И. П., Оленев Г. В. О возможной роли перестроек генетической структуры в регуляции численности популяции узкочерепной полевки // Экологическая генетика растений и животных.— Кишинев : Штиинца, 1981.— С. 19—20.

Закиян С. М., Кульбакина Н. А., Серов О. Л. и др. Оценка степени генетической дивергенции видов-двойников обыкновенной полевки Microtus arvalis, Microtus subarvalis (Rodentia) // Генетика.— 1984.— **20**. № 8.— С. 1365—1373.

Лакин Г. Ф. Биометрия.— М. : Высш. шк., 1980.— 293 с.

Chitty D. Variation and population density // Symposium Zool. Soc.— London, 1970.— **26**.— P. 327—333.

Dobrowolska A. Serum Transferrin Polymorphism in the Common Vole, Microtus arvalis (Pall., 1779) // Bull. Acad. Sci. Polon.— 1981.— **29**. N 3/4.— P. 149—154.

Dobrowolska A. Variability of transferrin in Microtus arvalis (Pall.). Population inhabiting farmland // Pol. Ecol. Stud.— 1981a.— **7**, N 2.— P. 257—269.

Dobrowolska A. Variability in transferrin and gamma-globulin level of blood serum in the common vole // Acta theriol.— 1983.— **28**, N 13.— P. 209—224.

Dobrowolska A., Zajaczkowski M. Variability of transferrin in three species of rodent populations coexisting in farmland // Acta theriol.— 1983.— **28**, N 9/20.— P. 225—233.

Gaines M. S., Gorman W. L. Are transferrin and leucinaminopeptidase electromorphs reliable genetic markers in the prairie vole, Microtus ochrogaster? // Oecologia.— 1985.— **66**, N 1.— P. 74—76.

Krebs Ch. J. Dispersal spacting behaviour and genetics in relation to population fluctuating in the vole Microtus townsendii // Fortschr. Zool.— 1979.— **25**, N 1.— P. 61—77.

Matson G. A., Sutton H. E., Swanson J. a.o. Distribution of hereditary blood groops among Indians in South America // American J. Physical Anthropol.— 1966.— **24**, N 1.— P. 51—69.

Maurer F. W. Heretability of the plasma transferrin protein in tree species of Microtus // Nature.— 1967.— **215**, N 5096.— P. 95—96.

McGovern M., Tracy C. R. Physiological plasticity in electromorphs of blood proteins in free-randing Microtus ochrogaster // Ecology.— 1985.— **66**, N 2.— P. 396—403.

Tamarin C. R., Krebs C. J. Microtus population biology. II. Genetic changes at the transferrin locus in fluctuating population of two vole species // Evolution.— 1969.— **23**, N 2.— P. 183—211.

Tamarin C. R., Krebs C. J. Selection at the transferrin locus in cropped vole populations // Heredity.— 1973.— **30**, N 1.— P. 52—61.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
АН УССР

Получено 16.04.86